

平成 22 年度 成績概要書

研究課題コード： 219301 (経常研究)

1. 研究成果

- 1) 研究成果名：DNA マーカーを利用した水稲、小麦、大豆の北海道優良品種判別技術
(予算課題名：道内主要農作物の DNA マーカー利用による品種判別技術)
- 2) キーワード：DNA マーカー 品種判別 水稲 小麦 大豆
- 3) 成果の要約：水稲、小麦、大豆について選定した、それぞれ 8、4、8 個から成る判別マーカーセットにより、現在の北海道優良品種および地方番号系統を迅速かつ客観的に判別できる。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：中央農試・遺伝資源部・遺伝資源グループ・木内 均
- 2) 共同研究機関(協力機関)：

3. 研究期間：平成 20～22 年度 (2008～2010 年度)

4. 研究概要

- 1) 研究の背景 安全・安心な農産物を供給するための食の偽装防止や知的財産権である育成者権の保護のためには、品種等に関する適正表示が不可欠であり、それを確認するために品種判別が行われてきた。しかし、従来の品種判別は作物体の観察や成分分析などにより行われてきたため、時間を要したり、客観的な判別が困難な事例が多かった。
- 2) 研究の目的 迅速で客観的な品種判別の手法として、DNA マーカーを利用し、新品種にも対応が可能な北海道優良品種の判別技術を開発する。

5. 研究方法

1) 多型マーカーの探索と判別マーカーセットの選定

- ・ねらい 現在の北海道優良品種および地方番号系統を全て判別できる判別マーカーセットを選定する。
- ・試験項目等 ①多型マーカーの選抜：公開されている SSR マーカー情報から 2～4 塩基反復領域のマーカーで、期待される増幅断片のサイズが小さいものを各連鎖群にほぼ同数を配分するように供試し、供試材料間で多型の有無を確認する。
②判別マーカーの選定：PCR 増幅断片の明瞭なものを中心にマーカーを選定するとともに、主要な品種について、選定したマーカーによる品種内遺伝子型の均一性を確認する。

2) 混合サンプルにおける検出可能比率の検討

- ・ねらい 異品種混入サンプルへの対応として、2 品種の混合サンプルについて検出可能な混合比率を検討するとともに、分析作業の効率化を図るため、1 サンプルとして分析可能な粒数の上限を設定する。
- ・試験項目等 ①抽出 DNA の量比での検討：品種単体から抽出した DNA を混合し、検出限界比率を確認する。
②種子切片混合比での検討：複数種子由来の種子切片を混合したサンプルから DNA を抽出し、混入を安定して検出出来る混合比率を確認する。

6. 研究の成果

- 1) 水稲では 8 個のマーカーから成る判別マーカーセットを選定し、PCR 増幅断片サイズを相対比較するための 8 つの標準品種を設定した。これにより、優良品種 16 点、旧優良品種 1 点、登録出願品種 1 点、地方番号系統 10 点の判別を可能とした(表 1)。
- 2) 小麦では 4 個のマーカーから成る判別マーカーセットを選定し、PCR 増幅断片サイズを相対比較するための 8 つの標準品種を設定した。これにより、優良品種 10 点、旧優良品種 4 点、地方番号系統 5 点の判別を可能とした(表 2)。
- 3) 大豆では 8 個のマーカーから成る判別マーカーセットを選定し、PCR 増幅断片サイズを相対比較するための 8 つの標準品種を設定した。これにより、DNA マーカーを利用して「ユキホマレ」の特定の DNA 領域を置換した「ユキホマレ R」を除き、優良品種 17 点、旧優良品種 2 点、地方番号系統 9 点の判別を可能とした(表 3)。
- 4) 各作物ともに 2 品種の種子切片を混合して DNA を抽出したサンプルでは安定して明瞭な増幅断片を検出できるのは混合比率が 25% 以上の場合であった(図 1)。このことから、複数粒を混合し 1 サンプルとして分析する場合は、その粒数の上限を 4 粒とした。
- 5) 選定した判別マーカーセットによる品種判別作業の条件設定を整理し、マニュアルを作成した。

<具体的データ>

表1 水稲品種判別マーカーとPCR増幅断片サイズ

品種・系統名	PCR増幅断片サイズ(bp)							
	RM80	RM5927	RM5850	RM7474	RM5755	RM6914	RM6324	RM6680
ななつぼし	170	168	158	119	198	170	153	171
空育179号	170	177	158	119	189	170	147	193
彗星	170	177	170	123	198	161	147	193
吟風	170	177	170	123	198	170	147	193
ゆきひかり	179	177	158	127	210	161	147	171
大地の星	179	177	200	123	189	170	147	193
しろくまもち	179	177	200	123	189	200	147	171
上育460号	179	177	200	127	189	170	147	171
上育463号	179	177	200	127	189	170	147	193
上育種464号	179	177	200	127	210	200	147	171
きたゆきもち	182	156	200	127	210	161	147	171
はくちようもち	182	177	158	127	210	200	153	171
あやひめ	182	177	161	123	210	161	147	193
風の子もち	182	177	170	127	210	161	147	171
北海311号	191	168	200	123	198	170	147	171
おぼろづき	191	177	200	123	198	170	147	171
空育172号	200	168	158	119	189	161	147	171
北海314号	200	168	200	123	198	170	147	193
ほしまる	200	177	158	123	198	170	147	171
空育酒177号	200	177	170	123	198	161	147	193
ふっくりんこ	200	177	200	119	189	170	147	171
彩	200	177	200	123	189	161	144	171
ほしのゆめ	200	177	200	123	189	170	147	171
上育462号	200	177	200	123	189	170	147	193
ゆめびりか	200	177	200	123	189	170	153	171
きらら397	200	177	200	123	198	170	147	171
北海313号	200	177	200	127	189	170	147	171
北海315号	200	188	158	127	189	161	147	171

注1) PCR増幅断片サイズはサイズマーカー（10bpラダー）と比較して目視で判定した。
 注2) 判別はPCR増幅断片サイズが同一のものを右隣のマーカーで分けて行う。
 注3) 網掛けはPCR増幅断片サイズの標準品種。

表3 大豆品種判別マーカーとPCR増幅断片サイズ

品種・系統名	PCR増幅断片サイズ(bp)							
	Satt 216	Satt 244	Satt 453	Satt 243	Satt 345	Satt 022	Satt 305	Satt 586
ツルムスメ	146	148	228	200	218	211	218	214
いわいくろ	146	148	240	200	218	211	200	214
中育60号	146	148	240	200	218	211	200	220
ユキシズカ	146	148	249	215	199	220	218	226
中育62号	146	181	240	200	199	211	200	214
トヨハルカ	146	181	240	200	199	220	200	208
十育250号	146	181	240	200	218	232	200	208
中育61号	146	181	249	200	218	211	218	214
トカチクロ	170	148	228	215	199	211	218	208
中生光黒	170	148	228	215	218	211	218	196
中育63号	170	148	240	200	218	211	200	196
ゆきびりか	170	148	240	200	218	211	200	220
スズマル	170	148	240	215	218	220	218	220
晩生光黒	170	148	249	230	218	220	218	226
ハヤヒカリ	170	169	271	200	218	220	200	214
十育249号	170	181	240	200	199	232	200	214
十育248号	170	181	240	200	218	211	200	214
中育64号	170	181	240	230	199	220	200	220
ユキホマレ	170	181	240	230	199	232	200	220
ユキホマレR	170	181	240	230	199	232	200	220
トヨムスメ	170	181	240	230	218	211	200	214
ユウヅル	170	181	240	230	218	211	218	208
音更大袖	170	196	228	215	199	220	218	220
大袖の舞	170	196	240	215	230	211	200	220
トヨコマチ	170	196	240	215	230	220	200	226
トヨホマレ	170	196	240	230	199	220	200	220
キタムスメ	170	196	249	215	199	220	200	214
十育251号	200	181	240	215	199	232	200	214
タマフクラ	230	148	228	230	218	211	200	196

注1) ユキホマレとユキホマレRの判別にはダイズシストセンチュウ・レース1抵抗性に関与する遺伝子座*Rhg1*および*Rhg4*のマーカーを用いる。
 注2) PCR増幅断片サイズはサイズマーカー（10bpラダー）と比較して目視で判定した。
 注3) 判別はPCR増幅断片サイズが同一のものを右隣のマーカーで分けて行う。
 注4) 網掛けはPCR増幅断片サイズの標準品種。

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- ① 道総研農試などにおける品種判別に活用できる。
- ② 種子生産において異型などの分析に利用することが可能である。
- ③ 種子1粒からの抽出DNAを1サンプルとした分析を基本とする。
- ④ 特定のDNA領域のみが置換された品種の判別には、その置換に用いられたDNAマーカーを利用する。

2) 残された問題とその対応

- ① 加工製品への適用は未検討である。

表2 小麦品種判別マーカーとPCR増幅断片サイズ

品種・系統名	PCR増幅断片サイズ (bp)			
	Xgwm294	Xgwm369	Xgwm122	Xgwm539
春のあけぼの	72	150	143	134
きたもえ	76	176	143	160
タクネコムギ	76	180	143	146
はるひので	86	150	143	134
北見春71号	90	150	139	140
はるきらり	90	150	143	124
北海262号	96	150	131	140
ゆめちから	96	150	139	134
キタノカオリ	96	150	139	140
タイセツコムギ	96	150	143	142
きたほなみ	96	176	131	140
北見85号	96	180	139	140
ホクシン	100	176	143	142
北見83号	100	176	143	164
HW-5号	104	182	123	124
春よ恋	104	182	123	138
チホクコムギ	110	182	143	142
ホロシリコムギ	110	182	143	160
ハルユタカ	114	182	139	140

注1) PCR増幅断片サイズはサイズマーカー（10bpラダー）と比較して目視で判定した。

注2) 判別はPCR増幅断片サイズが同一のものを右隣のマーカーで分けて行う。

注3) 網掛けはPCR増幅断片サイズの標準品種。

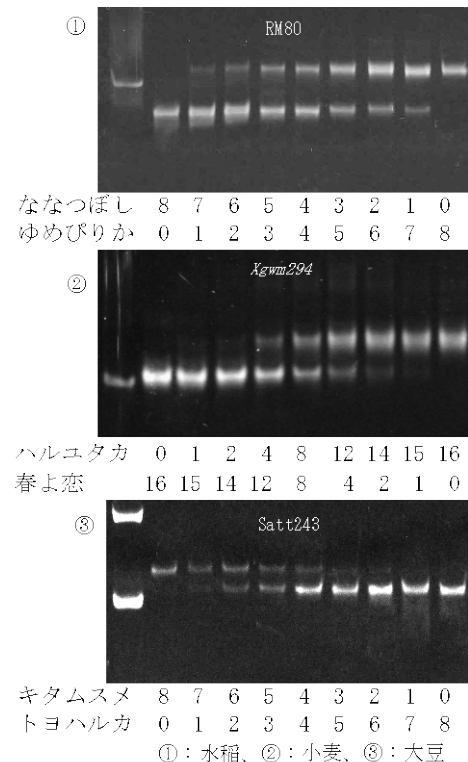


図1 種子切片混合材料におけるPCR増幅断片の検出例